

Aus der Medizinischen Universitätsklinik in Marburg
Direktor: Professor Dr. med. G. A. Martini

ABHÄNGIGKEIT DER ENZYMSEKRETION DES
RATTENPANKREAS VON
UNTERSCHIEDLICHEN PANKREOZYMINDOSEN

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

KARL NEUMANN

aus Essen

Marburg 1975

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)

Aus der Medizinischen Universitätsklinik in Marburg
Direktor: Professor Dr. med. G. A. Martini

ABHÄNGIGKEIT DER ENZYMSEKRETION DES
RATTENPANKREAS VON
UNTERSCHIEDLICHEN PANKREOZYMINDOSEN

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

KARL NEUMANN

aus Essen

Marburg 1975

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)



Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg am 28. Februar 1975

gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches

Dekan: Prof. Dr. med. H. Oepen

Referent: Prof. Dr. med. H. Goebell

Correferent: Prof. Dr. med. dent. H. Schmidt

INHALTSVERZEICHNIS

1.	EINLEITUNG	
1.1.	Untersuchungen zum Sekretionsverhalten des Rattenpankreas	S.3
1.2.	Untersuchungen zur maximalen Stimulation anderer Spezies (Hund, Katze)	S.6
1.3.	Fragestellung	S.8
2.	METHODIK	
2.1.	Technik der Perfusion	
2.1.1.	Operation	S.9
2.1.2.	Perfusion	S.12
2.1.3.	Auswertung	S.13
2.2.	Enzymmessungen	
2.2.1.	Allgemeines	S.14
2.2.2.	Amylase	S.14
2.2.3.	Chymotrypsin	S.15
2.2.4.	Trypsin	S.17
2.2.5.	Lipase	S.18
2.3.	Apparaturen und verwendete Chemikalien	S.19
3.	ERGEBNISSE	
3.1.	Verhalten der Enzymreaktion unter alleiniger Pankreozyminwirkung	S.19
3.2.	Sekretionsverhalten bei Gruppe II 1 E Secretin + 1 E CCK-PZ pro 10min/100gr	S.23
3.3.	Sekretionsverhalten bei Gruppe II Untergruppe C 1 E Secretin + 1 E CCK-PZ pro 100gr/10min ueber 120 min, dann 80 min 0,9%NaCl, nach 200 min erneute Zufuhr von 1 E Secretin +	

	1 E CCK-PZ pro 100gr/10min ueber 60 min	S.27
3.4.	Verhalten der Sekretion bei Gruppe III	
	1 E Secretin + 2 E CCK-PZ pro 100gr/10min	S.28
3.5.	Gruppe IV	
	Verhalten der Enzymsekretion unter der	
	Wirkung von 1 E Secretin + 4 E CCK-PZ	
	pro 100gr/10min	S.32
3.6.	Gruppe IV	
	Untergruppe b	
	Sekretionsverlauf der Enzyme Trypsin und	
	Chymotrypsin bei der Stimulation mit 1 E	
	Secretin + 4 E CCK-PZ pro 100gr/10 min ue-	
	ber 120 min, anschliessend Gabe von 0,9%	
	NaCl Loesung ueber 80 min und erneuter Sti-	
	mulation mit den gleichen Hormoneinheiten	
	ueber weitere 60 min	S.32
4.	DISKUSSION	
4.1.	Zur Fragestellung und Methodik	S.36
4.2.	Basale Sekretion	S.37
4.3.	Stimulierung mit Secretin und Pan-	
	kreozymin allein	S.37
4.4.	Stimulierung mit Secretin und Pankre-	
	ozymin	S.38
5.	ZUSAMMENFASSUNG	S.40
	Literaturverzeichnis	S.42

1. EINLEITUNG

1.1. Untersuchungen zum Sekretionsverhalten des Rattenpankreas.

Da die Ratte ein sehr gut zu haltendes Versuchstier ist, wurde haeufiger versucht, sie zur Erforschung der Pankreassekretion heranzuziehen. Die Schwierigkeit hierbei bestand jedoch in dem geringen Sekretionsvolumen des Rattenpankreas. Die technische Einrichtung, die zum Auffangen der Sekretionsfluessigkeit ueber eingebundene Katheter diente, war sehr kompliziert, und das kleine Volumen (μ l/min), welches in einer Pipette aufgefangen wurde, benutzten die meisten Autoren lediglich zur Bestimmung des Bicarbonatgehaltes, des Proteingehaltes und der Amylaseaktivitaet. Dementsprechend liegen bis heute relativ wenige Ergebnisse ueber die Enzymproduktion des Rattenpankreas vor.

Hirsch et al. (17) fanden 1957 bei der Ratte eine kontinuierliche, sehr niedrige Basalsekretion unter Hungerbedingungen. Sowohl Love (25) als auch Svatos und Jellinek (32) beobachteten 1957 nach Gabe von Secretin einen quantitativen Zusammenhang zwischen der Dosis des Secretins und der Fluessigkeitsbildung im Pankreas.

Grossmann (10) untersuchte 1958 ebenfalls die Wirkung von intravenoes verabreichtem Secretin und fand, dass es bei Steigerung der Secretindosis zu einer Zunahme des Pankreassaftes kam. Der Proteingehalt nahm jedoch nach der ersten Gabe von Secretin ein wenig ab, um danach auf einem niedrigen Niveau konstant zu bleiben.

Lin und Alphin (22) erforschten 1962 die Dosis-Wirkungsbeziehung von Secretin auf die Volumenabgabe des Pankreassaftes und beschrieben zum erstenmal die stimulierende Wirkung

von Pankreozymin auf die Enzymproduktion des Rattenpankreas. Dabei stellten sie fest, dass es mit der Steigerung der Secretindosis (0,5-5 mg) zu einer gradlinigen Zunahme der Pankreasfluessigkeit kam. Unter Pankreozyminwirkung beobachteten sie einen stetigen Anstieg der Amylasesekretion.

Debray et al. (6) erarbeiteten 1962 optimale Versuchsbedingungen zur Untersuchung des Rattenpankreas mittels Kanuellierung.

Ramirez et al. (21) schreiben 1966, dass die Gesamtsumme der Pankreasfluessigkeit direkt von der gegebenen Dosis Secretin abhaengt und dass eine maximale Ausschuettung bei einer Secretindosis zwischen 0,6 und 10 U/kg Koerpergewicht stattfindet.

Nach den Angaben von Heatly (11) 1968 ist die Reaktion des Pankreas hinsichtlich der Proteinausschuettung nach Secretingabe nur unbedeutend. Sie ist wahrscheinlich auf einen Auswascheffekt zurueckzufuehren. Bei Gabe von Pankreozymin soll es seiner Untersuchung zufolge zu einer Volumenzunahme der Pankreasfluessigkeit kommen, wobei die Konzentration des Bicarbonatgehaltes jedoch nicht zu unterscheiden ist von der Bicarbonatkonzentration, die bei hohen Dosen von Secretin erreicht wird. Es kommt also sowohl bei Pankreozymin als auch bei Secretin zu einem Anstieg des Bicarbonatgehaltes im Saft.

Barrowman et al. (2) fanden 1970 einen Tag- Nachtrhythmus der Rattenpankreassekretion, wobei sie ein Maximum der Sekretion bei Tageslicht beobachteten.

Morris und Webster (28) kommen in ihrer Arbeit 1971 zu der Erkenntnis, dass Urecholine und Pankreozymin die Pankreassekretion der Ratte anregen. Sie zeigten, dass Pankreozymin (30 U/kg sc) eine groessere und schnellere Wirkung auf das Rattenpankreas ausueben als Urecholine (2mg/kg sc). Beide Mittel bewirkten einen sofortigen Anstieg der Proteinkonzentration und Amylaseaktivitaet in der Pankreasfluessigkeit. Die maximale Sekretion wurde nach 20 - 40 Minuten erreicht. Die Sekretion kehrte nach 60 - 80 Minuten auf einen basalen Wert zurueck.

Schmidt, Goebell und Johannson (31) entwickelten 1962 eine neue Methode zur Bestimmung der Pankreassekretion. Es wurde bei der Ratte mittels einer Perfusion des Duodenums auf einfache Weise moeglich, die Basalsekretion und die stimulierte Sekretion des Rattenpankreas am anaesthesierten Tier ueber mehrere Stunden kontinuierlich zu messen. Unter den Bedingungen des Step-Testes bestaetigten sie, dass Secretin keine Zunahme der Enzymaktivitaeten im Saft bewirkt, jedoch einen starken stimulierenden Effekt auf die Bicarbonatsekretion besitzt. Derselbe Step-Test diente zur Bestimmung der maximalen Sekretion der Pankreashydrolasen Trypsin, Chymotrypsin und Amylase. Zur Stimulierung des Pankreas dienten die Hormone Pankreozymin und Pentagastrin.

Der Effekt des Pankreozymin auf die Bicarbonatausschuetzung war geringer als der Effekt bei Secretingabe. Pancreozymin hatte jedoch eine starke Wirkung auf die Enzyausschuetzung. Fuer Amylase wurde ein Maximum bei 2,4 U CCK-PZ/100 g/h festgestellt. Bei Steigerung der Pankreozymingabe blieb dieses Maximum erhalten. Um ein Maximum der Sekretion der Hydrolasen Trypsin und Chymotrypsin zu erreichen, benoetigten die Autoren hoehere Dosen von Pankreozymin (8,4 und 15 U CCK- PZ/100 g/h). Bei weiterer Steigerung der Hormongabe kam es zu einem Rueckgang der Enzymaktivitaeten von Trypsin und Chymotrypsin.

Pentagastrin stimulierte in sehr hohen Dosen ebenfalls die Sekretion von Enzymen, aber nicht in dem Masse wie Pankreozymin. Ausserdem konnte kein Unterschied im Sekretionsverhalten von Amylase, Trypsin und Chymotrypsin festgestellt werden.

Nach den oben genannten Untersuchungen kann man sagen, dass die Ratte zur Untersuchung der Pankreassekretion geeignet ist.

Die bisherigen Ergebnisse ueber das Sekretionsverhalten des Rattenpankreas verdeutlichen folgendes: Secretin bewirkt eine Zunahme des Fluessigkeitsvolumen und eine Steigerung des Bicarbonatgehaltes im Pankreassaft. Der Proteingehalt und die Enzymaktivitaeten werden von Secretin nur unbedeutend beeinflusst. Urecholine, Pentagastrin und Pankreozymin fuehren zu einer Steigerung der Sekretion von Protein und Enzymen, wobei dem Pankreozymin die staerkste Wirkung zukommt.

1.2. Untersuchungen zur maximalen Stimulation anderer Spezies (Hund, Katze)

Die bisherigen Untersuchungen zum Sekretionsverhalten des Pankreas beim Hund und bei der Katze zeigen die Bemuehungen, Klarheit darueber zu gewinnen, wie der Mechanismus der Sekretion des Pankreas fuer die Ausstossung von Fluessigkeit, Calcium, Bicarbonat, Proteinen und Enzymen ablaeuft. Dazu stimulierte man den Pankreas mit verschiedenen exogenen Hormonen oder durchspuelte das Duodenum mit verschiedenen Substanzen zur Freisetzung endogener Hormone.

Die Frage der maximalen Stimulation stand bei den einzelnen Versuchen immer wieder im Vordergrund, denn ueber die absolute Sekretion hoffte man die Bedeutung der einzelnen Stimuli qualitativ und quantitativ beurteilen zu koennen.

Als Stimulatoren dienten die im Organismus vorkommenden Gastrointestinalhormone Secretin, Gastrin und Pankreozymmin. Ein anderer Weg, die Pankreassekretion anzuregen, war die nervoese Reizung des Vagus. Sowohl die Vagusreizung als auch die Durchspuelung des Duodenums mit Saeure oder metallischen Ionen ergab nicht die maximale Sekretion, wie sie zum Beispiel mit exogenem zugefuehrttem Secretin erreicht wurde (1,8,15,19,23,27).

Die gastrointestinalen Hormone wurden in ihrer Wirkung einzeln aber auch in Kombination miteinander untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass Einzelgaben der Hormone Secretin und Pankreozymmin nicht den Stimulierenden Effekt besitzen wie die kombinierte Gabe beider Hormone.

Im Folgenden wird eine kurze Darstellung der einzelnen Untersuchungen gegeben: Henriksen und Worning (12) fanden 1967 beim Hund eine potenzierende Wirkung von Secretin und Pankreozymmin auf die Pankreasbicarbonatsekretion und eine summierende Wirkung auf die Proteinsekretion.

Way und Grossman (35) bestaetigten 1970 fuer die Katze die potenzierende Wirkung von CCK (CCK ist nach Mutt (29) identisch mit Pankreozymmin) und Secretin auf die Volumen und Bicarbonatausschuetzung. Sie beobachteten auch einen Anstieg der Pro-

teinausschüttung bei der Kombinationsgabe der beiden Hormone. Eine maximale Stimulation ist mit den gegebenen Dosen nicht erreicht worden.

Die Kombination von Gastrin und Secretin ist von Henriksen und Worning (16) 1969 beim Hund untersucht worden. Der Effekt in bezug auf Volumen-Bicarbonat- und Proteinausstoss unterschied sich nicht von der Summe der Effekte der einzelnen Hormone. Es besteht also keine potenzierende Wirkung bei gemeinsamer Gastrin-Secretinstimulation. Die Stimulationswirkung dieses Hormongemisches ist nicht so ausgeprägt wie die nach gemeinsamer Secretin-Pankreozymingabe. Weitere Untersuchungen von Henriksen (13) 1968 richteten sich auf die Wirkung von synthetischem Secretin auf die Pankreassekretion beim Hund. Er fand einen kurz andauernden Anstieg der Proteinsekretion und deutete ihm als Auswaschphänomen. Synthetisches Secretin hatte in bezug auf die erreichbare maximale Sekretion die gleiche Wirkung wie andere Secretinpräparate. In Überdosierung zeigte es keine Hemmwirkung auf die Sekretion von Flüssigkeitsvolumen und Bicarbonat.

Case et al. (4) stimulierten 1969 das Pankreas der Katze mit Secretin und Pankreozymin. Eine Einzelinjektion von Pankreozymin bewirkte für kurze Zeit eine Freisetzung von Enzymen. Es kam sofort nach der Injektion zu einem Anstieg der Amylaseaktivität im Saft, die aber rasch wieder nachließ. Bei maximaler Sekretion nach Secretingabe konnte eine Injektion von Pankreozymin eine weitere Steigerung hervorrufen.

Konturek et al. (20) fanden 1971 nach Untersuchungen bei der Katze, dass nach exogener Secretingabe (4U/kg-h) ein Maximum des Flüssigkeitsvolumens und des Bicarbonatgehaltes erreicht wurde. Dieses Maximum war identisch mit dem Maximum, welches nach steigenden Dosen von CCK kombiniert mit einer konstanten Secretindosis ($0,5\text{ U/kg-h}$) erreicht wurde. CCK allein bewirkte keinen messbaren Anstieg. Jedes Hormon erhöht also die Tätigkeit des anderen in bezug auf Zunahme der Pankreasflüssigkeit und des Bicarbonatgehaltes.

Henriksen (14) versuchte 1968 die maximale Sekretion des Hundepankreas zu bestimmen. Das Maximum des Flüssigkeitsvolumens

und des Bicarbonatgehaltes, das nach maximaler Secretinstimulation beobachtet wurde, war offenkundig tiefer, als die maximale Sekretionsrate nach kombinierter Secretin-Pankreozyminstimulation. Das laesst vermuten, dass erst nach Kombinationsgabe der beiden Hormone die maximale Sekretionskapazitaet fuer Fluessigkeitsvolumen und Bicarbonat entstanden war. Die Sekretionsrate fuer Proteine soll nach kombinierter Stimulation ebenfalls hoeher sein als die Rate nach isolierter Pankreozymingabe.

Bei allen Hunden wurde die groesste Sekretionsmenge in den ersten 10 Minuten nach Stimulationsbeginn beobachtet. Nach dieser Zeit kam es zu einem Abfall. Mit einer Ueberdosierung der Hormone konnte die zuvor beschriebene maximale Sekretion nicht erreicht werden.

1.3. Fragestellung

Es ist bisher festgestellt worden, dass Secretin und Pankreozymin zu den staerksten Stimulatoren des Pankreas gehoeren. In dieser Arbeit soll versucht werden, die Reaktion des Rattenpankreas auf steigende Dosen von Pankreozymin herauszufinden. Die Wirkung des Pankreozymin auf die Enzymausstossung wird unter Ausnutzung des sogenannten "Auswaschphaenomens" von Secretin durch eine gleichzeitige Gabe von 1 U Secretin pro 10 min/ 100 gr unterstuetzt, so dass man annehmen kann, hierdurch die maximale Stimulation des Rattenpankreas zu erhalten.

Die Beobachtung von Schmidt, Goebell und Johannson (31), dass es nach Erreichen einer maximalen Sekretion zu einem Abfall der Pankreassekretionstaetigkeit kommt, wirft die Frage auf, ob es sich bei diesem Phaenomen um eine Erschoepfung der Pankreassekretion oder um einen echten Hemmechanismus durch die kumulierende Hormonzufuhr handelt.

Das Absinken der Enzymaktivitaeten im Saft bei Stimulation mit steigenden Hormondosen wurde von Schmidt et al. (31) speziell fuer die Hydrolasen Trypsin und Chymotrypsin beobachtet. Amylase war davon nicht betroffen. Es trat deshalb die Frage auf,

in welchem Verhaeltnis die vier Hydrolasen Trypsin, Chymotrypsin, Lipase und Amylase nach lang anhaltender, kontinuierlicher und maximaler Stimulation mit Pankreozymin zueinander stehen. Existieren verschiedene Sekretionsmechanismen fuer die vier Enzyme?

Mit Hilfe einer neuen Technik schien es moeglich, diese Fragen fuer das pankreozyminstimulierte Rattenpankreas zu beantworten. Es ist nicht mehr unbedingt notwendig, wie Lin (24) noch 1962 empfohlen hat, den Hund als Versuchstier zur Klaerung dieser Fragen generell zu benutzen. Speziesunterschiede muessen jeweils beruecksichtigt werden.

2. METHODIK

2.1. Technik der Perfusion

2.1.1. Operation

Die Versuche wurden an weiblichen Wistar Ratten (180-200 gr) vorgenommen. Die Tiere erhielten Normalkost, bekamen jedoch waehrend der letzten 12 Stunden vor Versuchsbeginn lediglich Wasser. Als Narkotikum diente Urethan (0,7 ml/ 100gr einer 25% Loesung), das einmalig intramuskulaer injiziert wurde. Nach ca. einer halben Stunde ist die volle Wirkung der Narkose erreicht, so dass die Tiere keine Reflexe mehr zeigen.

Die Praeparation erfolgte in Anlehnung an die Beschreibung von Gosh und Schild (9) und die modifizierte Methode von Lai (22) und Pissidis und Clark (30), die jeweils eine Perfusionsmethode zur Bestimmung der Magensekretion angaben.

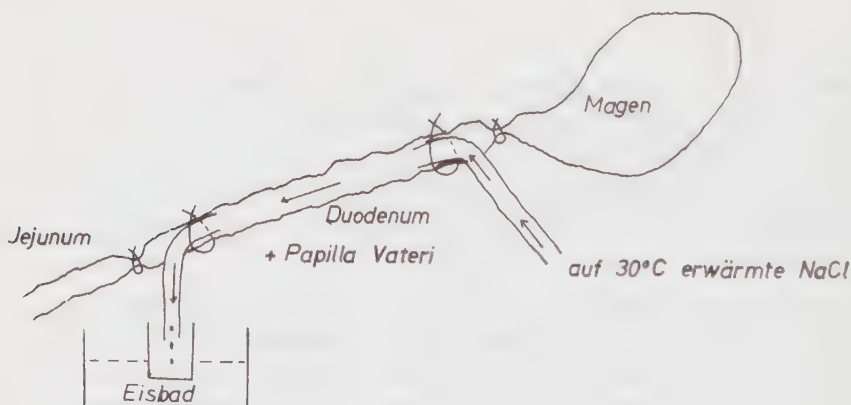
Schmidt, Johannson und Goebell (31) uebernahmen diese Perfusionsmethode fuer den Magen und entwickelten gleichzeitig eine neue Moeglichkeit, die Pankreassekretion mittels Perfusion zu bestimmen.

Nach Legen einer Trachealkanuele (ϕ 2mm) wurden zwei Polyaethylenschlaeuche (ϕ 2mm) ins Duodenum eingefuehrt. Dazu legt man

bei den Ratten einen ventralen vertikalen Mittellinienschnitt von ca. 5 cm Laenge. Das Duodenum wird identifiziert und vorsichtig freigelegt, so dass es uebersichtlich in der Operationswunde liegt. Zwei kleine senkrechte Inzisionen ins Duodenum, die mittels einer feinen Schere durchgefuehrt werden, dienen zur Einfuehrung der Polyaethylenschlaeuche. Eine Inzision wird wenige Millimeter distal des Pylorus vorgenommen, die andere am Ende des Duodenums, ca. 4-5cm vom Pylorus entfernt.

Die Schlaeuche, die in diese Inzisionen eingefuehrt worden sind, werden durch eine um das Duodenum gebundenen Ligatur fixiert, wobei jedoch darauf zu achten ist, dass das Nahtmaterial eng der aeusseren Duodenalwand anliegt, damit dort vorhandene kleine Blutgefuesse nicht verletzt werden. Die Verbindungen zu Magen und Jejunum wurden durch zwei auf gleiche Weise gelegte Ligaturen abgebunden.

Abb. 1



Beide Schlaeuche, der einfuehrende und der ausfuehrende, werden durch Fellinzisionen an der linken Bauchseite der Tiere nach aussen gefuehrt und mit Heftpflaster am Fell fixiert, damit es waehrend der Perfusion nicht zu Zerrungen und Verschiebungen des Duodenums kommt. Die anfangs durch den Mittellinienschnitt verursachte Wunde wird durch zwei Naehle wieder zusammengebracht und mit feuchten Mullbinden bedeckt.

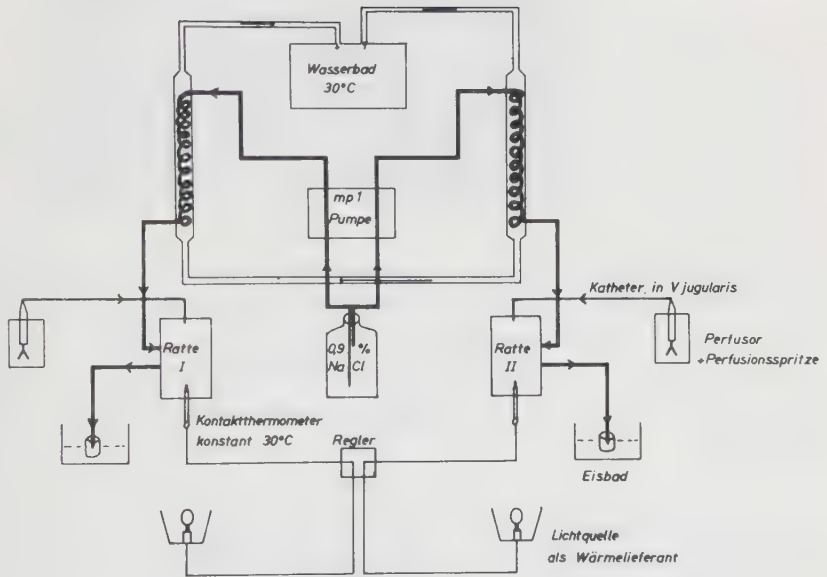


Abb. 2 Versuchsaufbau

Zur spaeteren kontinuierlichen Infusion von Hormonen wurde ein Gefaesskatheder (Braun, Melsungen, 0,5 mm) in eine Jugularvene gelegt.

2.1.2. Perfusion

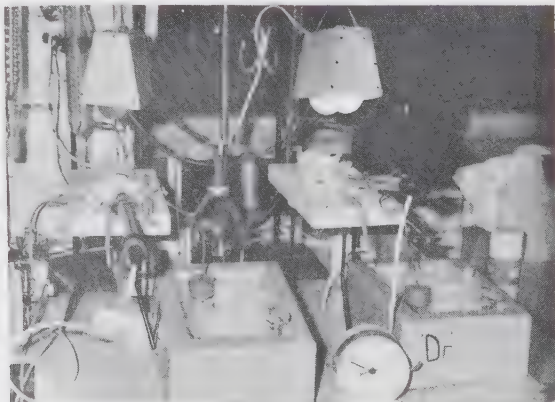
Aus Abb.2 ist der Versuchsaufbau ersichtlich. Das Duodenum wurde nach wiederholter Spuelung zur Entfernung von Nahrungsresten mit physiologischer Kochsalzloesung von 30°C kontinuierlich perfundiert. Da in dem perfundierten Teil des Duodenums auf jeden Fall die Papilla Vateri liegt, ist es moeglich, die exogenen Pankreassekrete zusammen mit der physiol. NaCl. aufzufangen. Das Perfusionsvolumen wurde durch eine Praezisionspumpe (mp 1, Buehler, Tuebingen) auf 1ml/min eingestellt.

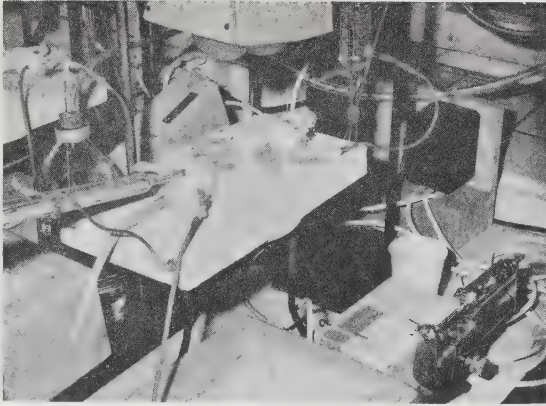
Nach Ende einer 10minuetigen Sammelperiode in ein eisgekuehltes Becherglas wurden jeweils 5 ml der Perfusionsfluessigkeit in ein verschliessbares Glasgefaess pipettiert und eingefroren.

Die Stimulantien Secretin und Pankreozymin wurden in physiologischer Kochsalzloesung (1,42 mmol/l) geloest und ueber den Gefaesskatheder in der Jugularvene mit einer Infusionspumpe (Perfusor, Braun, Melsungen) mit der Geschwindigkeit von 1,65ml/h kontinuierlich infundiert.

Die Koerpertemperatur der Tiere wurde mit Hilfe eines rectal eingefuehrten Kontaktthermometers und einer Heizvorrichtung auf 30°C eingestellt.

Siehe Bild 1 und 2





2.1.3. Auswertung

Es wurden insgesamt 26 Versuche durchgefuehrt. Die Versuchsbedingungen waren jedoch hinsichtlich Hormonzufuehrung/lomin und Zeitdauer unterschiedlich, so dass vier Hauptgruppen entstanden, von denen zwei weiter unterteilt wurden.

Gruppe 1: 1,5 E Pankreozymin/100g/10min
6 Tiere
ueber 200 min.

Gruppe 2: 1 E Pankreozymin/100g/10min
+ 1 E Secretin/100 g/10min

a) 4 Tiere
ueber 200min

b) 2 Tiere
ueber 360min

c) 2 Tiere
ueber 120min

dann 80min 0,9% NaCl

nach 200min erneute Zufuhr von 1 E PZ + 1 E Secretin/100g/
10min
ueber 60 min.

Gruppe 3: 2 E Pankreozymin + 1 E Secretin/100g/10min
6 Tiere
ueber 200 min

Gruppe 4: 4 E CCK-PZ + 1 E Secretin/100gr/10 min

a) 4 Tiere

ueber 200 min

b) 2 Tiere

ueber 120 min

dann 80 min 0,9% NaCl

nach 200 min erneute Stimulierung mit 4 E PZ + 1 E Secretin/100 g/10 min ueber 60 min.

2.2. Enzymmessungen

2.2.1. Allgemeines

Die Proben der Perfusionsfluessigkeit wurden bei -20°C aufbewahrt. Aus Versuchsgruppe 1 wurden die Enzymaktivitaeten von Amylase, Chymotrypsin, Lipase und Trypsin bestimmt.

In den Versuchsgruppen 2,3 und 4 untersuchten wir lediglich Chymotrypsin und Trypsin. Die Bestimmung der Aktivitaet der Verdauungsenzyme erfolgte direkt aus der aufgetauten Perfusionsfluessigkeit.

2.2.2. Amylase(Bernfeld) (3)

Die α -Amylase des Pankreas spaltet Staerke hydrolytisch und baut sie ab bis zur Maltose. Die reduzierenden Eigenschaften dieses Disacharids werden mit Hilfe der Farbreaktion gemessen.

Reagentien: 1% Staerkeloesung (Sulkowski) in Phosphatpuffer pH 6,8 (nach Soerensen).

Farbreagens: 10 gr 3,5-Dinitrosalizylsaeure + 300 gr Seignettesalz + 200 ml 2n NaOH ad 1000ml aqua. bidest.

0,2 ml bzw. 0,1 ml der 1:10 verduennten Perfusionsfluessigkeit und 0,8 bzw. 0,9 ml 1,5%ige Kochsalzloesung werden mit 2 ml der Staerkeloesung 15 min bei 25°C inkubiert, nach Zugabe von 1 ml Farbreagens 20 min gekocht und anschliessend mit aqua. bidest. auf 20 ml aufgefuellt. Die Messung der Extinktion am Eppendorff-Photometer erfolgt bei der Wellenlaenge 546 m gegen einen Leerwert, der anstelle des enzymhaltigen Saftes 1,5% NaCl enthaelt. (Kuevettenschichtdicke 1cm).

Die Aktivitaet der Amylase wird in mikro-Mol Maltose, gebildet pro min ausgedrueckt, wobei die Anzahl der freigesetzten Mole Maltose aus einer Eichkurve abgelesen wird.

Berechnung der Amylase in $\frac{\mu\text{mol}}{\text{min}}$ Duodenalsaft 1:10 verduennt.

Probe: 0,2 ml bzw. 0,1 ml Maltose in mmol/l.

1 ml 10 mmol Maltose ergibt ein E von 0,43(Eichkurve)

$$C \text{ malt.} = \frac{1 \text{ ml} \cdot 10 \cdot 10^{-3} \text{ mol}}{1000 \text{ ml} \cdot 20 \text{ ml}}$$

$$= 0,5 \cdot 10^{-6} \text{ mol/ml}$$

$$= 0,5 \frac{\text{mmol}}{1}$$

bei 546 nm ist

in mmol = 0,86

$$C \text{ malt} = \frac{\Delta E}{\epsilon} (\mu \text{ mol Maltose/ml})$$

Berechnung der Aktivitaet:

$$\frac{E \cdot d \cdot \text{Vol}}{\epsilon \cdot \text{Enz} \cdot \text{min}} \frac{\mu\text{mol} \cdot \text{ml}}{\text{ml} \cdot \text{ml} \cdot \text{min}} =$$

$$\frac{\mu\text{mol}}{\text{ml min}} = \frac{''}{\text{ml}}$$

(min= Inkubationszeit, d= Verduennungsfaktor, Enz = Enzymmenge, Vol = Endvolumenansatz).

2.2.3. Chymotrypsin (BTEE) (Hummel) (18)

Prinzip: N-Benzoyl-L-Tyrosin, dessen Carboxylgruppe nicht dissoziiert ist, absorbiert zwischen 250 und 260 nm wesentlich schwaecher als N-Benzoyl-L-Tyrosin mit dissoziierter Carboxylgruppe. N-Benzoyl-L-Tyrosinaethylester (BTEE) verhaelt sich wie undissoziiertes N-Benzoyl-L-Tyrosin, so dass die Hydrolyse des Esters durch Absorptionsmessung verfolgt werden kann. Durch Aufzeichnen der Extinktion gegen die Zeit erhaelt man die Umsatzkurve, aus der die Anfangsgeschwindigkeit der Reaktion leicht zu ermit-

teln ist. Trypsin hydrolysiert N-Benzoyl-L-Tyrosinaethylester nicht, so dass die Methode bei der Untersuchung von Enzymgemischen fuer Chymotrypsin spezifisch ist.

Durchfuehrung:

Substratloesung: BTEE 1,07 mM, Tris-Puffer 80mM, pH 7.8, 0,1 M CaCl_2

Aktivierung mit Enterokinase: 1 ml Duodenalsaft (Perfusionsfluessigkeit) wird mit 0,95 ml Tris Puffer 50 mM pH 7.8 und 0,05 ml Enterokinase-loesung (1 mg/ml 0,9% NaCl Loesung) 1 Stunde bei 25°C inkubiert (taeglich frischer Ansatz).

In die Quarzkuevette (Schichtdicke 1 cm) werden nacheinander pipettiert

Trispuffer 1,5 ml

BTEE 1,4 ml

und auf 25°C erwaermt.

Der Reaktionsstart erfolgt durch Zugabe von 0,1 ml des aktivierten Duodenalsaftes. Die Extinktionsaenderung wird im Zeiss-Photometer bei der Wellenlaenge 256 automatisch registriert.

Berechnung von Chymotrypsin in $-\frac{U}{\text{min}}-$

Ansatz: 1,5 ml Trispuffer

1,4 ml BTEE

0,1 ml Duodenalsaft.

Fuer diesen Ansatz gilt:

$$\frac{U}{\text{ml}} \text{ Probe} = 31,1 \cdot \frac{\Delta E}{\text{min}}$$

Zur Inkubation ist der Duodenalsaft 1:1 gemischt worden. Bei Aufzeichnung der Reaktion diente ein Schreiber mit der Verstaerkung $E_{\text{max}} = 0,5$ bzw. 0,2.

Dann ist

$$\frac{U}{\text{ml}} \text{ Probe} = 31,1 \cdot \frac{\Delta E}{\text{min}} \cdot 2 \cdot 0,5 \text{ bzw. } 0,2$$

In einer Minute wurden nicht 1 ml Perfusionsfluessigkeit, sondern

$\frac{x \text{ ml}}{10 \text{ min}}$ aufgefangen.
d.h.

$$\frac{U}{\text{min}} = 31,1 \cdot \frac{\Delta E}{\text{min}} \cdot 2 \cdot E_{\text{max}} \cdot \frac{x}{10}$$

2.2.4. Trypsin (TAME) (Schwert u. Takenaka) (33)

Prinzip:

N-p-Toluolsulfonyl-L-arginin-methylester (TAME) absorbiert bei 247 nm sehr viel schwächer als N-p-Toluolsulfonyl-L-arginin, so dass die Hydrolyse des Esters durch Trypsin in einem kinetischen Test verfolgt werden kann.

Durchführung:

Substratlösung: TAME 10 mM, Tris-Puffer 46 mM, pH 8,1, 11,5 mM CaCl_2

Aktivierung des Duodenalsaftes siehe oben.

Zur Messung der Aktivität des Enzyms dient ein Spectralphotometer mit der Wellenlänge 247 m. Ein temperierbarer Kuevettenhalter und ein Schreiber sind an das Gerät angeschlossen.

In die Quarzkuvette werden nacheinander pipettiert:

Tris-Puffer 2,6 ml

TAME 0,3 ml.

Die Reaktion wird mit 0,1 ml aktiviertem Duodenalsaft gestartet.

Berechnung von Trypsin in $\frac{U}{\text{min}}$

Ansatz: 2,6 ml Tris-Puffer

0,3 ml TAME

0,1 ml Duodenalsaft.

Für diesen Ansatz gilt:

$$\frac{U}{\text{ml}} \text{ Probe} = 55,6 \cdot \frac{\Delta E}{\text{min}}$$

Inkubationsverdünnung und Schreiberverstärkung wie bei Chymotrypsin, so dass:

$$\frac{U}{\text{min}} = 55,6 \cdot \frac{\Delta E}{\text{min}} \cdot 2 \cdot E_{\text{max}} \cdot \frac{x}{10}$$

$\frac{\Delta E}{\text{min}}$ wird aus der Steigerung der registrierten Geraden auf dem

Schreiber errechnet.

2.2.5. Lipase (Marchis - Mouren) (26)

Lipase spaltet emulgierte Fette in Fettsaeuren und Glycerin. Die durch die Fettsaeuren entstehende pH-Verschiebung wird durch Titration mit Natronlauge gemessen. Die Titration erfolgt automatisch im Autotitrator.

Reagentien: Emulsion aus 3%igem Gummi arabicum und 4 ml Olivenoel, hergestellt im Ultra-Turrax (6x 30 sec)

Na-Taurocholat 20% waessrige Loesung.

Testansatz: 15 ml Emulsion, 0,03 ml Na-Taurocholat und 0,7 ml 1 n NaOH bei 25°C.

Der Reaktionsstart erfolgt durch Zugabe von 0,05 ml des unverduennnten Duodenalsaftes (Perfusionsfluessigkeit). Die kontinuierliche Titration im Autotitrator mit CO₂-freier 0,1 n NaOH fixiert den pH-Wert im Testmedium auf 9,0 (pH-stat-Methode). Die verbrauchten NaOH-Aequivalente werden automatisch registriert. Die Lipaseaktivitaet wird in mikro-Aequivalent Fettsaeuren, freigesetzt pro min, ausgedrueckt.

Berechnung der Lipase in $\frac{\mu\text{mol}}{\text{min}}$

Ansatz: 15 ml Gummiloesung-Olivenoelgemisch
V ml Duodenalsaft

Aktivitaet in $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}$ Testloesung

$$= 12,5 \cdot \frac{K\%}{V \cdot 100} \cdot \left(\frac{x}{10}, \text{ dann } \frac{\mu\text{mol}}{\text{min}} \right)$$

V= eingesetztes Volumen

K= Kaestchenzahl (zwischen zwei Querstrichen des Schreibpapiers)

Der Faktor 12,5 ist eine Geraetekonstante, und zwar ergeben:

0,25 ml einer 0,1 NaOH einen Ausschlag von 100% $\hat{=}$ 0,025 mmol.

Der Papiervorschub betraegt 0,5/min, d.h.: bei 100% werden

$$0,5 \cdot 0,025 \frac{\text{mmol}}{\text{min}} \text{ NaOH verbraucht.}$$

$$= 0,0125 \frac{\text{mmol}}{\text{min}} = 12,5 \frac{\mu\text{mol}}{\text{min}}$$

2.3. Apparaturen und verwendete Chemikalien

Ultra-Turrax: Fa. Janke und Kunkel, Staufen i.Br.

Zeiss-Photometer: Spektralphotometer Modell PM-Q 2, Fa. Carl Zeiss, Oberkochen, Württ.

Eppendorf-Photometer: Fa. Netheler und Hinz, Hamburg

Titratör: Autotitratör Radiometer, Kopenhagen

Perfusionspumpe: Präzisionspumpe mp 1, Fa. Buehler, Tübingen

Infusionspumpe: Perfusor, Fa. Braun, Melsungen.

Enterokinase wurde von der Firma Light und Koch, London bezogen.

BTEE und TAME lieferte die Firma Serva, Entwicklungslabor, Heidelberg.

Secretin und Cholecystokinin/Pankreozymin erhielten wir von der G.I.H. Research Unit, Karolinska Institutet, Stockholm.

Alle übrigen Chemikalien lieferte in p.a.-Qualität die Firma Merck, Darmstadt.

3. ERGEBNISSE

3.1. Verhalten der Enzymsekretion unter alleiniger Pankreozyminwirkung

Der Verlauf der Enzymsekretion bei Stimulation mit 1,5 E CCK-PZ/100gr/10min ist in den Abb. 3, 4 und 5 dargestellt.

Basal, d.h. bei Perfusion des Duodenums nur mit physiol. NaCl liess sich keine Aktivität der einzelnen Enzyme im Perfusat nachweisen. Wie aus Abb. 3 ersichtlich, verhalten sich Trypsin und Chymotrypsin parallel.

Nach Hormonzuführung kommt es zu einem steilen Sekretionsanstieg dieser beiden Enzyme, so dass nach 20 Minuten ein Gipfel der Sekretion erreicht ist. Es wurden für Trypsin zu diesem Zeitpunkt $3,92 \pm 0,96$ U pro min gemessen. Für Chymotrypsin lag der Wert bei $4,73 \pm 1,08$ U pro min. In den nächsten 90 Minuten bleibt die Sekretion konstant auf einem Plateau, das für Trypsin $3,38 \pm 1,05$ U pro min und für Chymotrypsin $4,01 \pm 1,37$ U pro min beträgt.

Nach einer Stimulationsdauer von ca. 100 Minuten lässt die Sekretionstätigkeit nach. Es kommt zu einem konstanten Abfall der

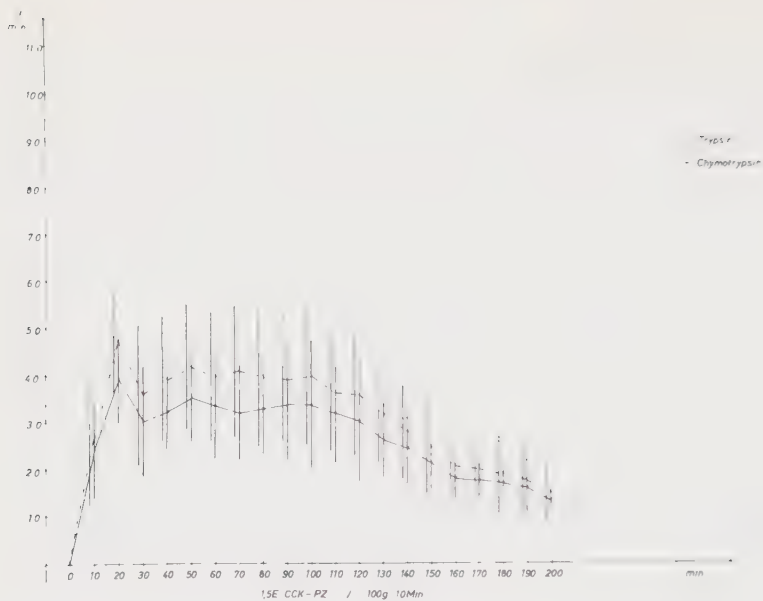


Abb.3

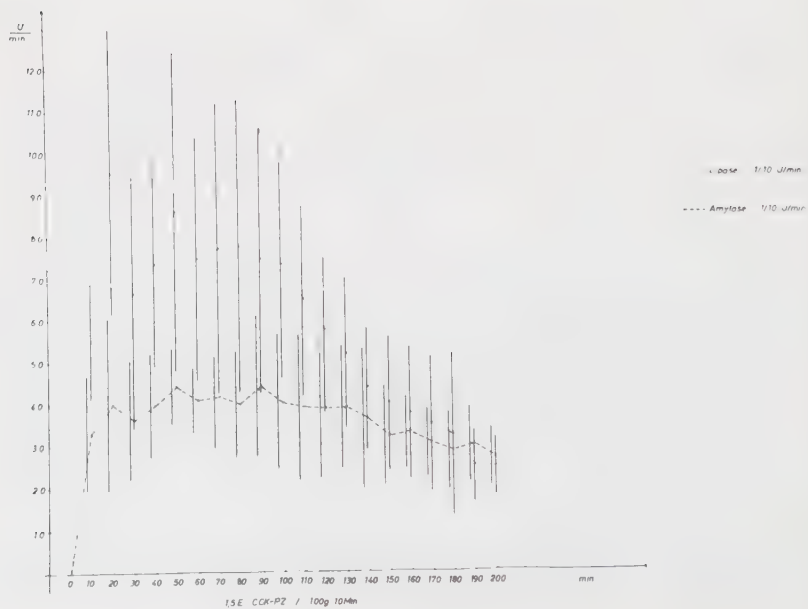


Abb.4

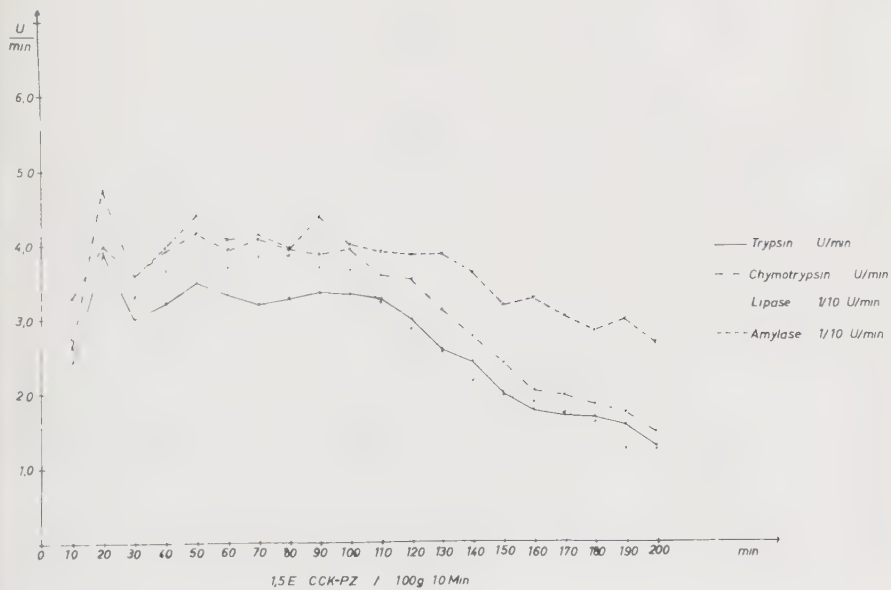


Abb. 5

Tabelle 1

Gruppe 1

1,5 E CCK/PZ/100 gr/lomin (Einzelwerte $\bar{x} \pm S$)

Zeit in min	Trypsin	Chymotrypsin	Lipase	Amylase
0				
10	2,42 $\pm$ 1,04	2,62 $\pm$ 1,41	55,06 $\pm$ 14,0	33,07 $\pm$ 12,8
20	3,92 $\pm$ 0,96	4,73 $\pm$ 1,08	95,53 $\pm$ 34,4	40,05 $\pm$ 20,8
30	3,03 $\pm$ 1,18	3,60 $\pm$ 1,52	66,37 $\pm$ 32,2	36,2 $\pm$ 14,5
40	3,23 $\pm$ 0,83	3,93 $\pm$ 1,35	73,52 $\pm$ 25,2	39,78 $\pm$ 12,3
50	3,52 $\pm$ 0,98	4,19 $\pm$ 1,36	86,1 $\pm$ 34,4	44,32 $\pm$ 9,2
60	3,35 $\pm$ 1,14	3,97 $\pm$ 1,41	74,8 $\pm$ 29,4	41,0 $\pm$ 7,7
70	3,24 $\pm$ 1,07	4,10 $\pm$ 1,42	77,4 $\pm$ 34,9	41,7 $\pm$ 12,2
80	3,29 $\pm$ 1,01	3,96 $\pm$ 1,49	77,37 $\pm$ 35,2	39,88 $\pm$ 13,0
90	3,39 $\pm$ 1,22	3,90 $\pm$ 1,42	74,75 $\pm$ 32,0	44,18 $\pm$ 17,2
100	3,37 $\pm$ 1,38	3,97 $\pm$ 1,47	73,7 $\pm$ 27,6	40,32 $\pm$ 16,6
110	3,19 $\pm$ 1,07	3,62 $\pm$ 1,24	65,25 $\pm$ 23,5	39,3 $\pm$ 17,7
120	3,01 $\pm$ 1,30	3,57 $\pm$ 1,30	57,53 $\pm$ 19,7	38,93 $\pm$ 16,8
130	2,60 $\pm$ 0,81	3,14 $\pm$ 1,09	51,97 $\pm$ 18,4	39,18 $\pm$ 14,8
140	2,44 $\pm$ 0,78	2,79 $\pm$ 1,00	43,67 $\pm$ 14,7	36,48 $\pm$ 17,0
150	2,10 $\pm$ 0,56	2,44 $\pm$ 0,99	39,92 $\pm$ 16,2	32,12 $\pm$ 12,1
160	1,78 $\pm$ 0,43	2,04 $\pm$ 0,65	37,65 $\pm$ 15,9	33,07 $\pm$ 8,6
170	1,74 $\pm$ 0,36	1,98 $\pm$ 0,74	34,95 $\pm$ 16,3	30,53 $\pm$ 8,2
180	1,68 $\pm$ 0,42	1,87 $\pm$ 0,84	32,3 $\pm$ 19,7	28,68 $\pm$ 9,4
190	1,59 $\pm$ 0,66	1,75 $\pm$ 0,79	24,88 $\pm$ 8,7	30,18 $\pm$ 9,0
200	1,30 $\pm$ 0,33	1,48 $\pm$ 0,59	24,83 $\pm$ 7,0	27,0 $\pm$ 7,3

Enzymeinheiten, die pro Minute sezerniert werden, so dass nach 200 Minuten von Trypsin nur noch $1,30 \pm 0,33$ U/min und von Chymotrypsin $1,48 \pm 0,59$ U/min gemessen werden konnten.

Abb. 4 zeigt die Sekretionstaetigkeit fuer Lipase und Amylase. Auch bei diesen Enzymen kommt es kurz nach Stimulationsbeginn zu einem steilen Anstieg. Nach 20 Minuten wird ein Maximum erreicht. Der Wert fuer Lipase betraegt zu diesem Zeitpunkt $95,53 \pm 34,4$ U/min, der fuer Amylase $40,05 \pm 20,8$ U/min.

Auffaellig ist, dass Lipase sich aehnlich wie Trypsin und Chymotrypsin verhaelt, denn waehrend der naechsten 90 Minuten pendelt die Lipasesekretion um ein Plateau von $76,76 \pm 31,03$ U/min.

Nach ca. 100 Minuten Stimulation kommt es auch hier zu einem kontinuierlichen Abfall, der nach 200 Minuten den Wert von $24,83 \pm 7,0$ U/min erreicht.

Bei der Amylase dagegen haelt sich das Plateau (konstant hohe Sekretionstaetigkeit) laenger als bei den drei anderen Enzymen. Die Hoehe des Plateaus betraegt fuer Amylase $40,81 \pm 13,7$. Das Nachlassen der Sekretionstaetigkeit beginnt erst nach ca. 130 Minuten. Es ist deutlich zu erkennen, dass der Abfall der Amylaseaktivitaet nach dieser Zeit laengst nicht so stark ist wie bei Trypsin, Chymotrypsin und Lipase. Der Wert nach 200 Minuten betraegt fuer Amylase $27,0 \pm 7,3$ U/min.

Zum Vergleich der Aktivitaeten aller vier Enzyme dient auch Abb.5. Auffallend ist hier, dass sich Trypsin, Chymotrypsin und Lipase fast parallel verhalten. Das gilt sowohl fuer die Zeitdauer des Plateaus als auch fuer die Steilheit des Abfalls. Amylase besitzt ein laengeres Plateau und faellt danach langsamer ab. Die Einzelwerte der Enzymaktivitaeten sind in Tabelle 1 aufgefuehrt.

3.2. Sekretionsverhalten bei Gruppe II

1 E Sekretin + 1 E CCK/PZ pro 10 min/100 gr

Siehe hierzu die Abb. 6 und 7. Einzelwerte bis zu einer Stimulationsdauer von 200 Minuten sind in Tabelle 2 aufgefuehrt.

Die Abb. 6 enthaelt eine Zusammenstellung aus den Untergruppen der Gruppe 2. Deshalb konnte bei der Stimulationshoehe von 1 E Sekretin + 1 E CCK/PZ pro 10 min folgende Anzahl von Tieren ausgewer-

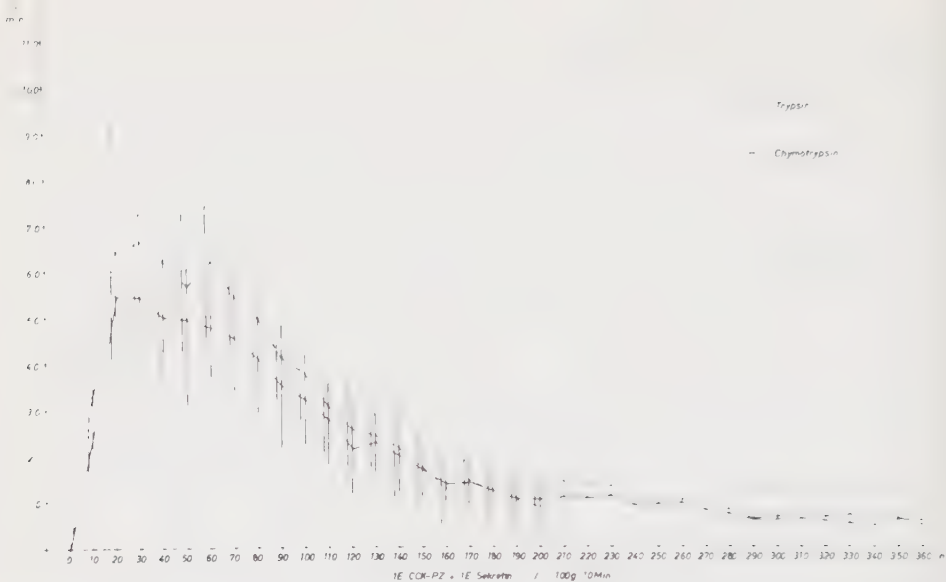
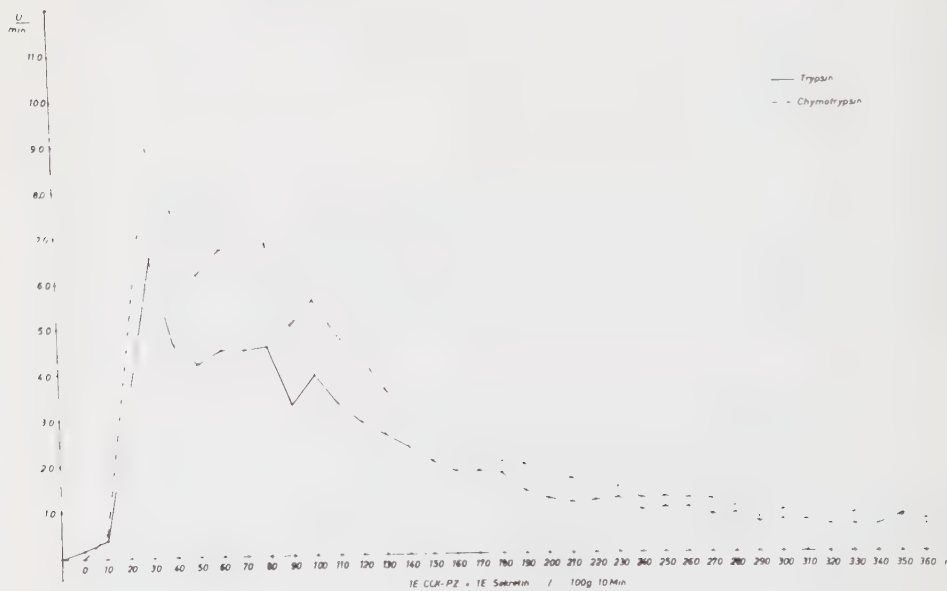


Abb. 6



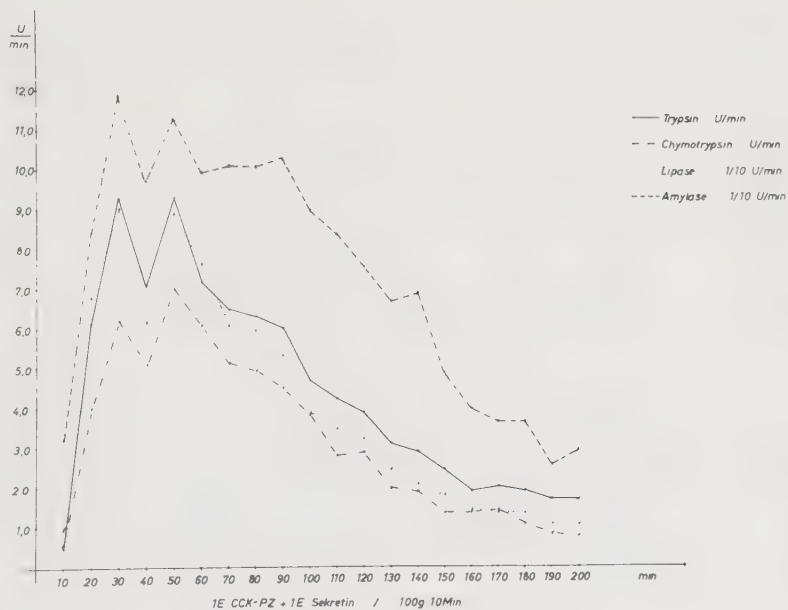


Abb. 8

Tabelle 2

Gruppe II

1 E Secretin + 1 E CCK/PZ/100 gr/10 min (Einzelwerte $\bar{x} \pm s$)

Zeit in min	Trypsin	Chymotrypsin
0		
10	2,52 $\pm$ 2,4	3,28 $\pm$ 3,1
20	5,48 $\pm$ 1,3	6,41 $\pm$ 2,8
30	5,46 $\pm$ 1,9	6,65 $\pm$ 2,5
40	5,01 $\pm$ 1,4	6,23 $\pm$ 2,5
50	4,96 $\pm$ 1,9	5,69 $\pm$ 1,6
60	4,80 $\pm$ 1,1	6,23 $\pm$ 1,7
70	4,55 $\pm$ 1,3	5,46 $\pm$ 1,1
80	4,11 $\pm$ 1,2	4,98 $\pm$ 1,3
90	3,50 $\pm$ 1,4	4,12 $\pm$ 0,92
100	3,21 $\pm$ 1,0	3,77 $\pm$ 1,04
110	2,75 $\pm$ 1,0	3,05 $\pm$ 1,0
120	2,13 $\pm$ 1,0	2,55 $\pm$ 1,15
130	2,27 $\pm$ 0,7	2,42 $\pm$ 1,02
140	1,98 $\pm$ 0,8	2,15 $\pm$ 1,08
150	1,67 $\pm$ 0,6	1,70 $\pm$ 0,84
160	1,36 $\pm$ 0,4	1,25 $\pm$ 0,81
170	1,40 $\pm$ 0,5	1,41 $\pm$ 0,64
180	1,21 $\pm$ 0,6	1,21 $\pm$ 0,63
190	1,04 $\pm$ 0,5	1,02 $\pm$ 0,70
200	1,00 $\pm$ 0,4	0,86 $\pm$ 0,53

tet werden: Die ersten 120 Minuten standen 8 Tiere zur Verfügung, von 120 - 200 Minuten 6 Tiere und von 200 - 360 Minuten nur noch 2 Tiere.

Nach Abb. 6 beginnt der Sekretionsverlauf mit einem steilen Anstieg der Enzymaktivitäten von Trypsin und Chymotrypsin. Die beiden Enzyme verhalten sich parallel. Nach 20 Minuten Stimulation wird ein Plateau erreicht, das dann über ca. 60 - 70 Minuten erhalten bleibt. Der Plateauwert für Trypsin beträgt $5,09 \pm 1,16$ U/min, der für Chymotrypsin beträgt $6,05 \pm 1,74$ U/min. Danach nimmt die Sekretionstätigkeit stark und konstant ab, so dass auf dem Schaubild ein gradliniger Abfall der beiden Kurven zu erkennen ist. Der Abfall ist nach 100 Minuten beendet. Die Werte betragen hier: Trypsin $0,91 \pm 0,39$, Chymotrypsin $0,99 \pm 0,52$ U/min.

Diese niedrige Enzymaktivität bleibt dann für beide Enzyme während der nächsten 160 Minuten konstant.

In Abb. 7 ist der Sekretionsverlauf für nur ein Tier der Gruppe 2 dargestellt (über 360 min). Auch hier ist klar zu erkennen: steiler Anstieg während der ersten 20 Minuten, Plateau in den nächsten 70 Minuten, dann steiler Abfall bis nach ca. 200 Minuten ein weitgehend konstant niedriger Wert erreicht ist.

Bei einem Tier der Gruppe 2 mit einer Stimulationsdauer von 200 Minuten wurden außer Trypsin und Chymotrypsin noch Lipase und Amylase bestimmt. Der Enzymverlauf hierzu ist in Abb. 8 aufgezeichnet. Man sieht, dass das Plateau für Amylase ca. 20 Minuten länger andauert als für die drei anderen Enzyme. Auffallend ist jedoch der sonst parallele Sekretionsverlauf aller vier Enzyme.

3.3. Sekretionsverhalten bei Gruppe II

Untergruppe C

1 E Secretin + 1 E CCK/PZ pro 100 gr/10min über 120 min, dann 80 min 0,9% NaCl, nach 200 min erneute Zufuhr von 1 E Secretin + 1 E CCK/PZ pro 100 gr/10 min über 60 min.

Zur Auswertung kamen zwei Tiere. In den Abb. 9 und 10 ist der

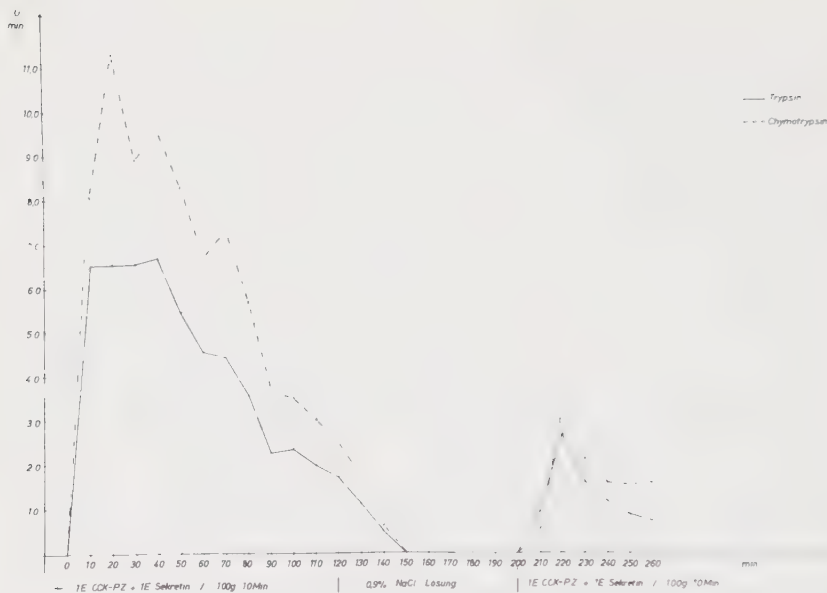
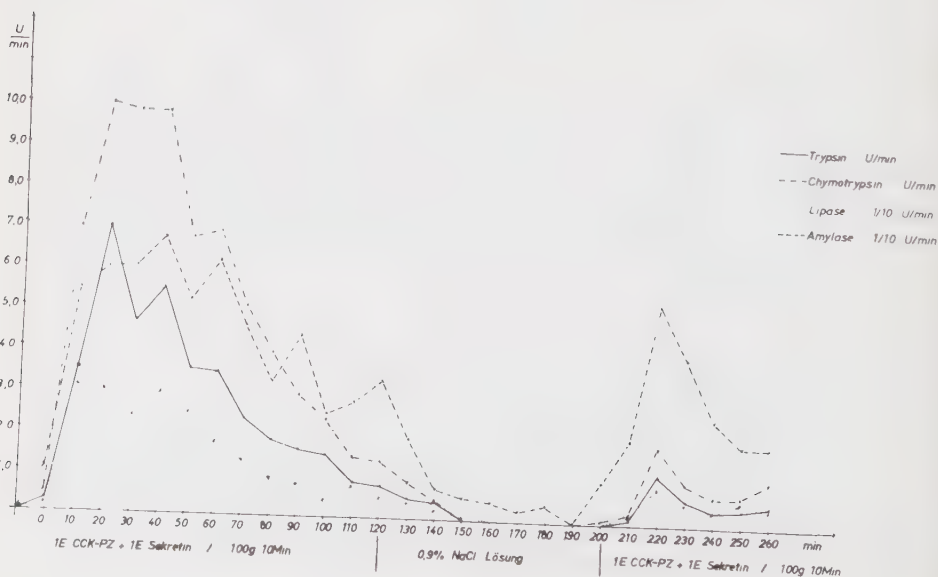


Abb. 9



Sekretionsverlauf fuer jeweils ein Tier aufgezeichnet.

Abb. 10 gibt ueber die Aktivitaet von Trypsin und Chymotrypsin hinaus Auskunft von Amylase- und Lipasesekretion.

Nach Erreichen eines Plateaus und anschliessendem Abfall der Sekretionstaetigkeit aller vier Enzyme, wurde nach 120 Minuten die Stimulation ausgesetzt. Damit kam es zu voelligem Versiegen der Enzymaktivitaeten mit Ausnahme der Sekretion von Amylase. Bei erneuter Stimulation nach 200 Minuten nimmt die Enzymsekretion wieder zu. Die vier Enzyme zeigen ein aehnliches Verhalten wie zu Beginn des Versuchs. Zunaechst ergibt sich ein steiler Anstieg bis zu einem Gipfel, der jedoch nicht die Hoehe des vorherigen Plateaus erreicht. Es kommt diesmal nicht zu einem Plateau, sondern nach Erreichen des Gipfels faellt die Sekretion sofort wieder steil ab, um sich schliesslich auf einem konstant niedrigen Wert einzupendeln. Alle vier Enzyme verhalten sich hier parallel.

3.4. Verhalten der Sekretion bei Gruppe III

1 E Secretin + 2 E CCK/PZ/ 100 gr/10 min

Darstellung des Sekretionsverhaltens siehe die Abb. 11 und 12. Einzelwerte sind aus Tabelle 3 ersichtlich.

Die Abb. 11 zeigt, dass es kurz nach Stimulationsbeginn zu einem steilen Anstieg der Enzymaktivitaeten kommt. Bereits nach 10 minuetiger Hormonzufuhr ist ein Gipfel der Sekretion erreicht. Fuer Trypsin wurden zu diesem Zeitpunkt $4,77 \pm 1,55$ U/min gemessen und fuer Chymotrypsin $5,42 \pm 1,91$ U/min. Aus dieser maximalen Sekretion entwickelt sich fuer beide Enzyme ein Plateau (Trypsin: $4,53 \pm 1,41$ U/min, Chymotrypsin: $5,21 \pm 1,40$ U/min) das ca. 40 Minuten erhalten bleibt. Der anschliessende Abfall der Aktivitaeten ist nach 150 Minuten Stimulationsdauer erreicht. Von diesem Zeitpunkt bleibt die Sekretion auf einem konstant niedrigen Wert stehen. Die Sekretionswerte waehrend der letzten 50 Minuten des Versuches betragen fuer Trypsin $0,74 \pm 0,11$ U/min und fuer Chymotrypsin $0,51 \pm 0,1$ U/min.

Den Sekretionsverlauf bei nur einem Tier dieser Gruppe verdeutlicht Schaubild 12. Auch hier ist die oben beschriebene Tendenz klar erkennbar. Auffallend ist wiederum der parallele Verlauf der Sekretion von Trypsin und Chymotrypsin.

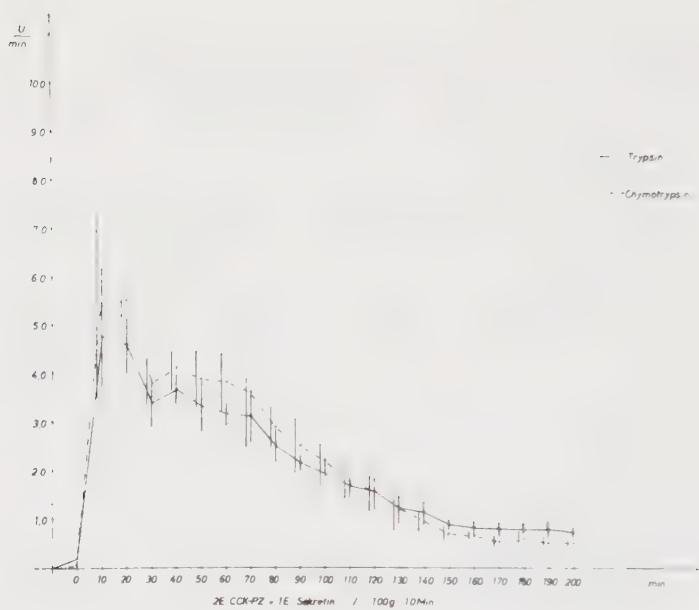


Abb. 11

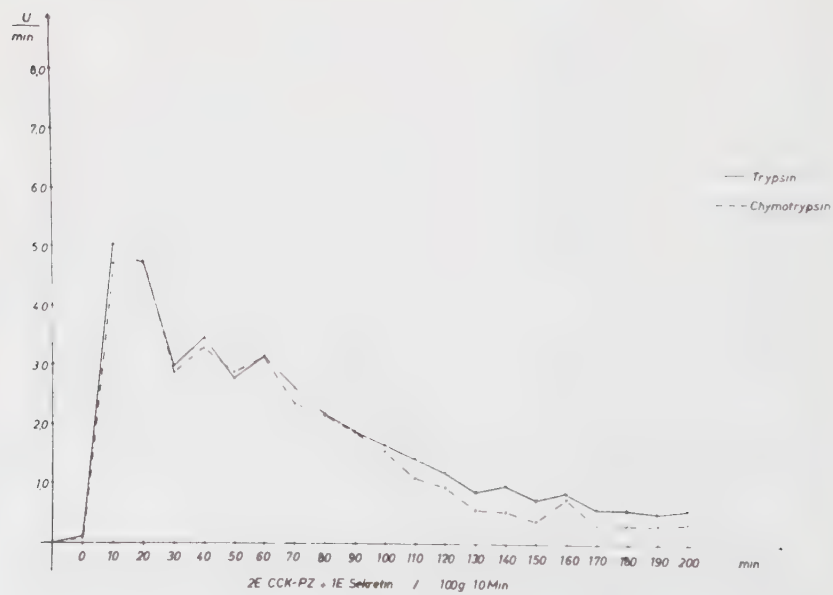


Abb. 12

Tabelle 3

Gruppe III

1 E Secretin + 2 E CCK/PZ/100 gr/10 min (Einzelwerte $\bar{x} \pm S$)

Zeit

in min

Trypsin

Chymotrypsin

0		
10	4,77 $\pm$ 1,55	5,42 $\pm$ 1,91
20	4,60 $\pm$ 0,60	5,53 $\pm$ 0,39
30	3,41 $\pm$ 0,50	3,83 $\pm$ 0,52
40	3,68 $\pm$ 0,32	4,13 $\pm$ 0,48
50	3,33 $\pm$ 0,54	3,89 $\pm$ 0,62
60	3,17 $\pm$ 0,24	3,83 $\pm$ 0,62
70	3,12 $\pm$ 0,53	3,62 $\pm$ 1,13
80	2,51 $\pm$ 0,35	2,89 $\pm$ 0,44
90	2,16 $\pm$ 0,17	2,51 $\pm$ 0,59
100	1,93 $\pm$ 0,33	2,20 $\pm$ 0,56
110	1,68 $\pm$ 0,27	1,77 $\pm$ 0,35
120	1,56 $\pm$ 0,37	1,57 $\pm$ 0,41
130	1,22 $\pm$ 0,30	1,21 $\pm$ 0,44
140	1,14 $\pm$ 0,24	0,96 $\pm$ 0,21
150	0,89 $\pm$ 0,10	0,70 $\pm$ 0,18
160	0,82 $\pm$ 0,13	0,67 $\pm$ 0,08
170	0,80 $\pm$ 0,15	0,54 $\pm$ 0,14
180	0,79 $\pm$ 0,13	0,59 $\pm$ 0,17
190	0,80 $\pm$ 0,18	0,51 $\pm$ 0,14
200	0,74 $\pm$ 0,11	0,51 $\pm$ 0,10

3.5. Verhalten der Enzymsekretion unter der Wirkung von 1 E Secretin + 4 E CCK/PZ/100 gr/10 min
Gruppe IV

Die Abb. 13 beinhaltet eine Zusammenfassung der Tiere, bei denen ueber 200 Minuten Hormone zugefuehrt wurden. Daraus ergibt sich, dass fuer die ersten 120 Minuten 6 Tiere ausgewertet werden konnten, fuer die restlichen 80 Minuten nur noch 4 Tiere. Tabelle 4 enthaelt die Einzelwerte bis zu einer Stimulationsdauer von 200 Minuten.

Man sieht, dass es nach 20 Minuten Stimulation zu einem Maximum der Sekretion kommt. Die Sekretionshoehe betraegt fuer Trypsin $2,80 \pm 0,95$ U/min und fuer Chymotrypsin $3,74 \pm 1,81$ U/min. Anders als bei den Versuchen mit geringerer Hormonzufuehrung bildet sich hier kein Plateau mit konstant hoher Sekretion aus, sondern sofort nach Erreichen des Gipfels kommt es zu einem Abfall der Aktivitaeten. Dieser Sekretionsnachlass ist pro Zeiteinheit relativ konstant und findet bis zum Ende des Versuches noch keinen Abschluss. (Trypsinwert hier: $0,83 \pm 0,18$ U/min, Chymotrypsinwert: $0,79 \pm 0,20$ U/min).

In Abb. 14 ist das Verhalten der Enzymsekretion nur eines Tieres der Gruppe IV dargestellt.

Auch hier ist zu sehen, dass die Sekretionstaetigkeit nach schnellem, steilen Anstieg ein Maximum erreicht. Dieses Sekretionsmaximum bleibt nicht erhalten, sondern es kommt sofort danach zu einem Abfall der Sekretion, der gegen Ende des Versuches noch nicht beendet ist. Bei den Versuchen aus Gruppe IV ist wiederum das parallele Verhalten von Trypsin und Chymotrypsin auffallend.

3.6. Sekretionsverlauf der Enzyme Trypsin und Chymotrypsin bei der Stimulation mit 1 E Secretin + 4 E CCK/PZ/100 gr/10 min ueber 120 Minuten, anschliessend Gabe von 0,9% NaCl Loesung ueber 80 Minuten und erneuter Stimulation mit den gleichen Hormoneinheiten ueber weitere 60 Minuten.

Gruppe IV Untergruppe b

Als Beispiel soll die Abb.15 dienen, die das Enzymverhalten bei einem der beiden Tiere unter den oben genannten Versuchsbedingungen darstellt.

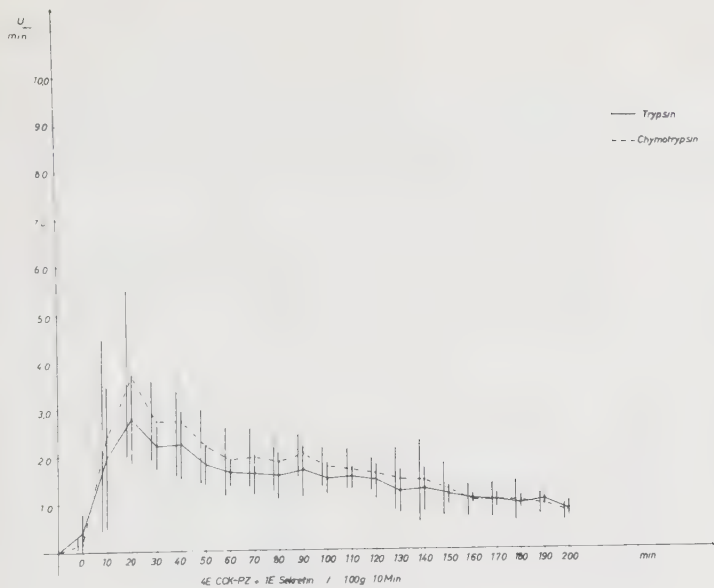


Abb. 13

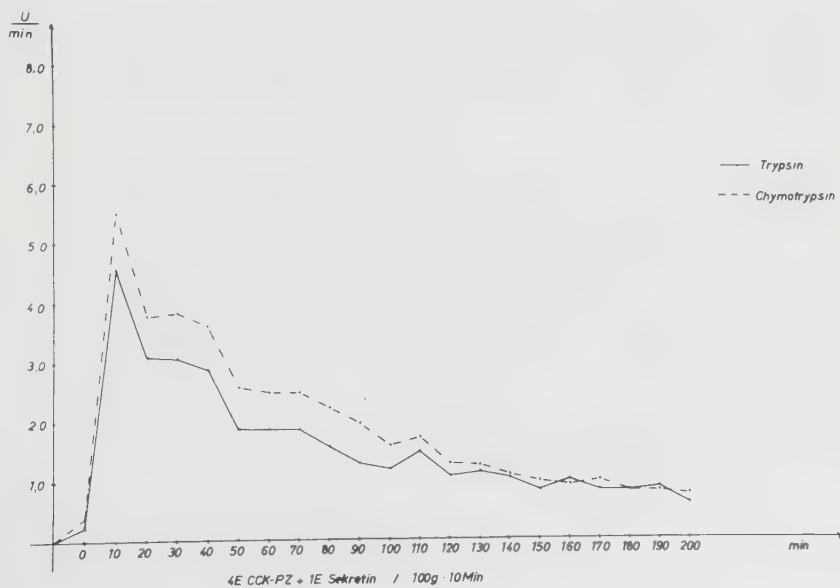


Abb. 14

Tabelle 4

Gruppe IV

1 E Secretin + 4 E CCK/PZ/100 gr/10 min (Einzelwerte $\bar{x} \pm S$)

Zeit

in min

Trypsin

Chymotrypsin

0		
10	1,98 $\pm$ 1,51	2,46 $\pm$ 2,05
20	2,80 $\pm$ 0,95	3,74 $\pm$ 1,81
30	2,22 $\pm$ 0,48	2,76 $\pm$ 0,85
40	2,26 $\pm$ 0,72	2,75 $\pm$ 1,18
50	1,82 $\pm$ 0,43	2,22 $\pm$ 0,77
60	1,65 $\pm$ 0,26	1,91 $\pm$ 0,73
70	1,63 $\pm$ 0,44	1,98 $\pm$ 0,62
80	1,57 $\pm$ 0,50	1,88 $\pm$ 0,66
90	1,69 $\pm$ 0,55	2,04 $\pm$ 0,50
100	1,51 $\pm$ 0,35	1,77 $\pm$ 0,42
110	1,55 $\pm$ 0,26	1,70 $\pm$ 0,44
120	1,48 $\pm$ 0,40	1,63 $\pm$ 0,38
130	1,24 $\pm$ 0,47	1,49 $\pm$ 0,68
140	1,28 $\pm$ 0,48	1,46 $\pm$ 0,89
150	1,17 $\pm$ 0,26	1,28 $\pm$ 0,57
160	1,08 $\pm$ 0,10	1,05 $\pm$ 0,36
170	1,04 $\pm$ 0,16	1,04 $\pm$ 0,38
180	0,97 $\pm$ 0,15	1,03 $\pm$ 0,43
190	1,05 $\pm$ 0,14	0,95 $\pm$ 0,24
200	0,83 $\pm$ 0,18	0,79 $\pm$ 0,20

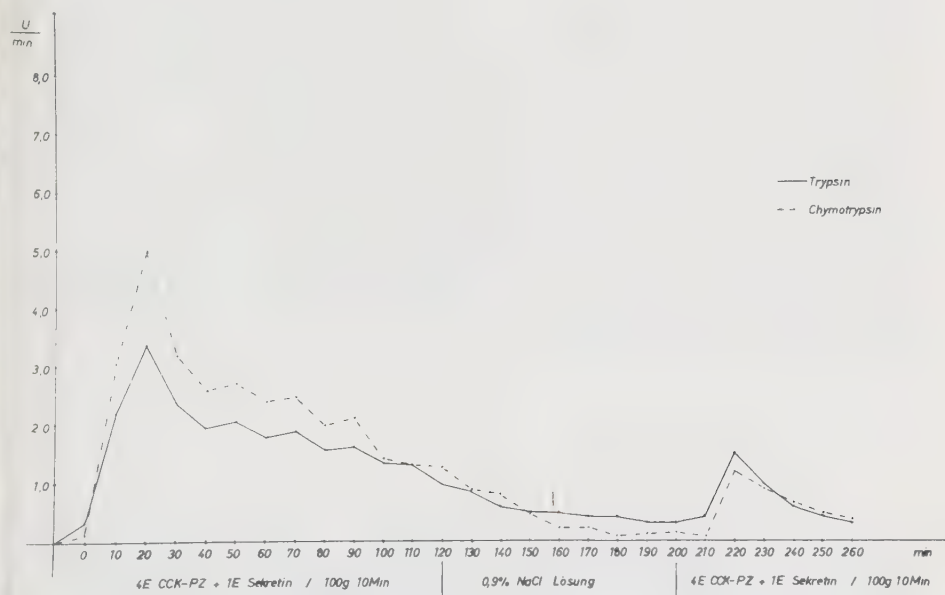


Abb. 15

Da der Anfang des Versuches unter den gleichen Bedingungen stattfand wie bei 3.5., ist auch der Beginn des Kurvenverlaufs in Abb. 15 weitgehend identisch mit denen der Abb. 13 und 14, d.h. steiler Anstieg der Sekretion bis zu einem Gipfel waehrend der ersten 20 Minuten Stimulationsdauer. Daraufhin ist ein kontinuierlicher Abfall der Enzymaktivitaeten feststellbar.

Nach Aussetzen der Hormongaben ist ein weiteres Nachlassen der Enzymaktivitaet zu beobachten. Die Aktivitaet versiegt jedoch waehrend der NaCl-Gabe nicht ganz. Nach ca. 40 Minuten ist ein minimal konstant bleibender Wert erreicht. Sobald die Hormongabe wieder einsetzte, kam es zu einem erneuten Anstieg der Sekretion. Dieser Anstieg vollzieht sich innerhalb von 20 Minuten und erreicht wiederum einen Gipfel, dessen Hoehe etwa der Sekretions-taetigkeit zu Beginn der NaCl-Zufuhr entspricht. Waehrend der letzten 40 Minuten nimmt die Sekretion wieder kontinuierlich ab und entspricht nach 260 minuetiger Versuchsdauer fast dem minimalen Wert bei NaCl-Gabe.

4. DISKUSSION

4.1. Zur Fragestellung und Methodik

Sekretionsstudien am Pankreas der Ratte wurden von verschiedenen Autoren durchgefuehrt, entweder als bioassay fuer Secretin oder Pankreozymin (11, 24, 25, 32, 34,) oder zur Charakterisierung der Sekretionseigenschaften der Druese (2, 6, 10, 17, 28, 5, 7). Technische Schwierigkeiten bei der Kanuellierung des Gallenganges, in den die Pankreasgaenge mit vielen kleinen Verzweigungen muen-den und die geringe Volumenproduktion spielen eine grosse Rolle. Bei Untersuchung der Enzymsekretion wurde aus diesen Gruenden meist nur das Gesamtprotein bestimmt, nur selten zusaetzlich die Aktivitaet der Amylase (6, 22). Diese Schwierigkeiten werden durch eine in unserem Arbeitskreis entwickelte Methode beseitigt, bei der das Duodenum kontinuierlich mit physiologischer Kochsalz-loesung perfundiert wird (31). Die vom Pankreas an das Perfusat abgegebenen Mengen Bicarbonat und Enzyme koennen exakt bestimmt werden. In einer frueheren Studie wurde an diesem Modell der Einfluss steigender Dosen von Secretin, CCK-PZ und Pentagastrin auf

die Bicarbonat- und Enzymsekretion untersucht (31). Bei diesen Untersuchungen fiel auf, dass die Sekretion der Amylase bei Gabe von 0,15 U/100 gr/10 min beginnt, ihr Maximum bei 0,75 U/100gr/10 min erreicht und dann auf einem Plateau bei Dosen bis zu 35 U/100gr/10 min bleibt. Die Sekretion von Trypsin und Chymotrypsin begann ebenfalls bei 0,15 U/100 gr/10 min, erreichte ihr Maximum jedoch erst bei 3,25 U/100 gr/10 min. Bei hoeheren Dosen nahm die Sekretion der proteolytischen Enzyme im Gegensatz zur Amylase stark ab. Diese Ergebnisse wurden im Step-Test mit konsekutiver Erhoehung der CCK/PZ Dosis alle 20 Minuten gewonnen. Es trat die Frage auf, ob die Diskrepanz zwischen dem Verhalten der Amylase und den proteolytischen Enzymen auf die Eigenart des Step-Tests zurueckzufuehren ist. Ausserdem war unklar, ob die Abnahme der Sekretion der proteolytischen Enzyme bei supramaximaler Dosierung von CCK-PZ auf eine Erschoepfung der Druese oder eine Hemmung der Sekretion zurueckzufuehren ist.

Die vorliegende Arbeit wurde zur Klaerung dieser beiden Fragen durchgefuehrt.

4.2. Basale Sekretion

In unseren Experimenten liess sich unter basalen Bedingungen keine messbare Sekretion von Enzymen nachweisen. Dies entspricht dem Ergebnis der mit gleicher Methodik aus unserem Arbeitskreis bereits publizierten Arbeit. (31) Grossman (10) zeigte, dass das Pankreas der wachen Ratte eine geringe spontane Proteinsekretion hat. Heatly (11) und Dockray (7) zeigten auch bei der mit Urethan narkotisierten Ratte eine stetige, wenn auch sehr geringe Spontansekretion von Protein. Bei Dockray betrug sie etwa $150 \mu\text{g}$ pro 10 min. Es ist somit wahrscheinlich, dass sich diese kleinen Enzymmengen bei der Verduennung auf 10 ml Perfusionsvolumen dem Nachweis entzogen.

4.3. Stimulierung mit Secretin und Pankreozymin allein

Bei unseren jetzigen Versuchen wurde keine alleinige Stimulierung mit Secretin durchgefuehrt, da sich bei den frueheren Versuchen gezeigt hatte, dass sich auch bei maximaler Stimulierung der Bicarbonatgehalt mit Secretin (3,25 U/100 gr/10 min) keine mess-

bare Enzymaktivitaet im Perfusat zeigte (31). Diese Befunde stimmen mit jenen aus der Literatur ueberein, bei denen bei steigenden Secretindosen und steigender Volumen-Bicarbonatproduktion keine wesentlich Steigerung der Enzymsekretion zu beobachten war (11, 7), Geringe und voruebergehende Vermehrung der Proteingabe im Pankreas wurde als "wash-out" gedeutet (11). Die Konzentration von Protein im reinen Pankreassaft fiel mit steigender Fluessigkeitsbildung staendig ab (10). Insgesamt sind fuer die Stimulierung der Fluessigkeitsbildung im Pankreas der Ratte senr viel hoehere Secretindosen als beim Hund noetig (24, 7).

In unserem Versuch wurde der Langzeiteffekt einer submaximalen Dosis (maximal fuer die Amylasesekretion) von 1,5 U/100 gr/10 min von CCK-PZ ohne zusaetzliche Gabe von Secretin untersucht. Die maximale Sekretion aller vier untersuchten Hydrolasen wurde nach 20 Minuten erreicht. Diese Sekretion wurde ueber ca. 80 Minuten in einem Plateau aufrechterhalten, dann nahm die Sekretion von Lipase, Trypsin und Chymotrypsin stark ab, um nach weiteren 130 Minuten eine niedrige Dauersekretion zu erreichen. Die Amylasesekretion nahm im Vergleich hierzu sehr viel langsamer ab.

4.4. Stimulierung mit Sekretin und Pankreozymin

In allen weiteren Versuchen wurde zur besseren Fluessigkeitsbildung Secretin in der Dosis von 1 U/100 gr/10 min infundiert. In drei verschiedenen Versuchsansaetzen wurde der Effekt einer zusaetzlichen Pankreozymininfusion in steigenden Dosen untersucht. Wichtige kumulative Daten zum Verhalten des Pankreas in den einzelnen Versuchsbedingungen sind in Tabelle V zusammengefasst. Hierbei zeigt sich folgendes:

- a) im Vergleich zur Stimulierung mit CCK-PZ allein ist die Gipfelsekretion mit 6,6 U/min hoeher, die Plateausekretion liegt auf einem hoeheren Niveau, sie dauert aber sehr viel kuerzer (30 Minuten gegenueber 80 Minuten). Die Dauersekretion von 1 U/10 min wird 40 Minuten frueher erreicht. Die ausgeschiedene Gesamtzymmenge ist in beiden Faellen und bis zum Erreichen der Dauersekretion gleich.
- b) Die Stimulierung der Druese mit log. steigenden Dosen CCK-PZ fuehrt dazu, dass
 - die Gesamtmenge der sezernierten Enzyme bis zum Erreichen

Tabelle 5

Sekretionsverhalten des Rattenpankreas unter verschiedenen Hormondosen

Hormon units/100gr/10min	Ausschüttung von Chymo- trypsin b. Er- reichen d. Dau- ersekretion (U)	Dauersekretion von 1 U/min erreicht nach Minuten	Gipfelsekretion U Dauer min min	Plateausekretion U Dauer min min	Abfallende Sekretion Dauer (min)
1,5 CCK-PZ	62,7	210	5,5 10	4,0 80	130
1 S + 1 CCK-PZ	68,8	170	6,6 10	6,0 30	140
1 S + 2 CCK-PZ	42,8	130	5,5 10	4,0 50	70
1 S + 4 CCK-PZ	29,4	140	3,7 10	2,0 70	70

der Dauersekretion abnimmt

- die Gipfelsekretion niedriger wird
- die Hoehe der Plateausekretion niedriger liegt
- die Plateausekretion in der Dauer zunimmt und die Abfallphase kuerzer wird.

Diese Befunde koennen unter zwei Aspekten interpretiert werden: Einmal fuehrt die Dauerinfusion des Hormons zu einer Erschoepfung der in der Druese praeformiert liegenden Enzymproteine. Bei allen Hormonkonzentrationen kommt es nach einer voruebergehenden Plateausekretion zu einer Dauersekretion von Enzymprotein auf niedrigem Niveau, welches wahrscheinlich die eigentliche Syntheserate des Pankreas widerspiegelt. Die dauernd sezernierte Enzymmenge lag bei allen Hormondosen in der gleichen Groessenordnung.

Ausserdem zeigt sich aber, dass steigende supramaximale Dosen von Pankreozymin zu einer zunehmenden Hemmung der Enzymsekretion fuehren. Die absolut ausgeschuettete Enzymmenge bis zum Erreichen der niedrigen Dauersekretion nimmt mit steigender Hormondosis stetig ab.

In zwei Versuchsansaetzen wurde die Hormongabe nach ca. 160 Minuten unterbrochen, die Infusion mit physiologischer NaCl weitergefuehrt und nach ca. 50 Minuten die Hormoninfusion erneut begonnen. Es zeigte sich jedesmal ein voruebergehender erneuter Anstieg der Enzymsekretion. Waehrend bei vergleichsweise niedriger Hormondosis (1 E/ 100 gr/ 10 min) nach Sistieren der CCK-PZ-Infusion die Enzymsekretion auf nicht mehr messbare Werte zurueckging, blieb bei vorheriger hoher Hormongabe (4 E/100 gr/10 min) noch eine niedrige Enzymsekretion erhalten. Dies zeigt eine Akkumulation von Hormon im Serum an.

5. ZUSAMMENFASSUNG

1. Die Enzymsekretion des Rattenpankreas wurde mit Hilfe einer standardisierten Perfusion des Duodenum und Messung der Enzymaktivitaeten im Perfusat untersucht. Gemessen wurden in allen Experimenten die Enzyme Trypsin und Chymotrypsin, in einigen zusaetzlich Lipase und Amylase. Vor Versuchsbeginn erhielten die weiblichen Tiere eine Urethannarkose.
2. Die Sekretion des Pankreas wurde unter Dauerinfusion von 1 E/100 gr/10 min Secretin (GIH, Stockholm) und gleichzeitiger

Infusion von Cholecystokinin-Pankreozymin (CCK-PZ, GIH, Stockholm) in steigender Dosierung (1 U, 2 U, 4 U/100 gr/10 min) untersucht. Die Zahl der Tiere im Standardversuch betrug 6 - 8. Die Sekretion wurde ueber 200 Minuten untersucht, in einigen Faellen bis 360 Minuten. In einem gesonderten Versuchsansatz wurde die Wirkung von CCK-PZ allein mit der Dosis von 1,5 E/100 gr/10 min untersucht.

3. Bei allen Versuchen zeigte sich nach dem Erreichen einer Gipfelsekretion (10 - 20 Minuten) ein Sekretionsplateau mit anschliessender Sekretionsminderung bis zum Erreichen einer niedrigen Dauersekretion.
4. Die Verminderung der Sekretion im Anschluss an ein Sekretionsplateau zeigt eine allmaehliche Erschoepfung der Sekretionskapazitaet fuer Enzyme an.
5. Die Plateausekretion dauerte um so laenger und lag auf um so niedrigerer Hoehe, je hoeher die gegebene Dosis von CCK-PZ war. Dies zeigt eine echte Hemmung der Enzymsekretion bei supramaximalen Hormondosen an. Die absolut ausgeschiedene Enzymmenge bis zum Erreichen der niedrigen Dauersekretion nahm mit steigenden Dosen CCK-PZ ab.
6. Die Enzyme Trypsin, Chymotrypsin und Lipase verhielten sich in allen Phasen der Sekretion parallel. Die Sekretion der Amylase hielt sich dagegen laenger auf einem hoeheren Niveau.

Literaturverzeichnis

1. Argent, B.E., R.M. Case und T. Scratcherd,
"Stimulation of amylase secretion from the perfused cat pancreas by potassium and other alkali metal ions", in:
J. Physiol., 216, London, Aug. 71, S. 611-624
2. Barrowman, J., D. Brogan, J. Fordham, M. Hathorn, A. Mott, P. Rahilly und R. Tiptaft,
"A possible diurnal rhythm in rat pancreatic secretion", in:
J. Physiol., 208, London, May 70, S. 14-16
3. Bernfeld, P.,
"Alpha-amylases", in:
C.O. Colowick und N.O. Kaplan,
Methods of Enzymology, New York, 1955, vol 1, S. 149 f.
4. Case, R.M., A.A. Harper und T. Scratcherd,
"The secretion of electrolytes and enzymes by the pancreas of the anaesthetized cat", in:
J. Physiol., 201, Apr. 69, S. 335-348
5. Colwell, A.R. jr.,
"Collection of pancreatic juice from rats and consequences of its continued loss", in:
Amer. J. Physiol., 164, (1951), S. 812-821
6. Debray, Ch., J. de la Tour, Ch. Vaille, Ch. Rozé und M. Souchart,
"Contribution à l'étude de la sécrétion pancréatique externe du rat", in:
J. Physiol. Path. gén., 54, 1962, S. 459-499
7. Dockray, G.J.,
"The action of secretin, cholecystokinin-pancreozymin and caru-lein on pancreatic secretion in the rat", in:
J. Physiol., 225, London, 1972, S. 671-692
8. Goebell, H., Ch. Steffen, Ch. Bode und K. Hupe,
"Pancreozymin stimulation of calcium elimination in pancreatic juice in dogs", in:
Klinische Wochenschr., 48, Jg. 15, Jun. 70, S. 755-757
9. Gosh, M.N. und H.O. Schild,
"Continuous recording of acid gastric secretion in the rat", in:
British J. Pharmacol., 13, 1958, S. 54-61

10. Grossman, M.J.,
"Pancreatic secretion in the rat", in:
Americ. J. Physiol., 194, 1958, S.535-547
11. Heatly, N.G.,
"The assay of pancreozymin and of secretin and pancreozymin
simultaneously in the rat", in:
J. Endoc., 42, 1968, S.549-557
12. Henriksen, F.W. und H. Worning,
"The interaction of secretin and pancreozymin on the exter-
nal pancreatic secretion in dogs", in:
Acta Physiol. Scand., 70, Jun. 67, S.241-249
13. Henriksen, F.W.,
"The effect of synthetic secretin on the external pancreatic
secretion in dogs", in:
Acta Physiol.Scand.,72, Apr. 68, S.433-440
14. Henriksen, F.W.,
"The maximal pancreatic secretion in dogs",in:
Scand. J. Gastroent., 3, 1968, S. 140-144
15. Henriksen, F.W. und H. Worning,
"External pancreatic response to food and it's relation to
the maximal secretory capacity in dogs", in:
Gut., 10, Mar. 1969, S.209-214
16. Henriksen, F.W. und H.Worning,
"The mutual influence of gastrin and secretin on the external
pancreatic secretion in dogs", in:
Acta Physiol. Scand., 76, May-Jun.69, S.67-72
17. Hirsch, G.C., J.C.U. Junqueira H.A., Rothschild und S.R.Dohi,
"Die Pankreassaftsekretion bei der Ratte.I.Die kontinuierliche,
irreguläre Hungersekretion und ihre Ursachen", in:
Pfluegers Arch. ges. Physiol, 264,1957,S.78-87
18. Hummel, B.C.,
" A modified spectrophotometric determination of chymotryp-
sin, trypsin and thrombin", in:
Canad. J. Biochem., 37,1955, S.1393-1397
19. Konturek, S.J., B. Gabrys und J. Dubiel,
"Effect of exogenous and endogenous secretin on gastric and
pancreatic secretion in cats", in:
Americ. J. Physiol.,217, Oct.69, S.1110-1113

20. Konturek, S.J., T. Radecki, E. Mihos und J. Thor,
"The effect of exogenous and endogenous secretin and cholecystokinin on pancreatic secretion in cats", in:
Scand. J. Gastroenterol., 6, 1971, S.423-428
21. Ramirez, J., K.A. Hubel und J.A. Clifton,
"Intestinal factors affecting pancreatic exocrine secretion in the rat", in:
Amer. J. Physiol., 211, Ju. 66, S.260-263
22. Lai, K.S.,
"Studies on gastrin, Part I. A method of biological assay of gastrin", in:
Gut, 5, 1964, S. 327-333
23. Lenninger, S. und P. Ohlin,
"The flow of juice from the pancreatic gland of the cat in response of vagal stimulation", in:
J. Physiol., 216, London, Jul. 71, S.303-318
24. Lin, T.M. und R.S. Alphin,
"Comparative bioassay of secretin and pancreozymin in rats and dogs", in:
Am. J. Physiol., 203, 1962, S.926-928
25. Love, J.W.,
"A method for the assay of secretin, using rats", in:
Quart. J. exp. Physiol., 42, 1957, S.279-84
26. Marchis-Mouren, G., L. Sarda und P. Desunelle,
"Purification of hog pancreatic lipase", in:
Arch. Biochem. Biophys., 83, 1959, S.309 f.
27. Meyer, J.H., L.W. Way und M.J. Grossman,
"Pancreatic response to acidification of various lengths of proximal intestine in the dog", in:
Amer. J. Physiol., Oct. 70, S.971-977
28. Morisset, J.A. und Webster, P.D.,
"In vitro and in vivo effects of pancreozymin, urecholin and cyclic AMP on rat pancreas", in:
29. Mutt V. und E. Jorpes,
"Cholecystokinin and pancreozymin, one single hormone?", in:
Acta physiol. Scand., 66, 1966, S.196-202
30. Pissidis, G.A. und C.G. Clark,
"An improved technique of perfusion of the stomach for the study of gastric secretion in the rat", in:
Gut, 8, 1967, S. 196-197

31. Schmidt, H.A., H. Gebell und F. Johansson,
"Pancreatic and gastric secretion in rats studied by means
of duodenal and gastric perfusion", in:
Scand. J. Gastroent., 7, 1972, S.47-53
32. Svatos, A. und V. Jelinek,
"Gastrointestinal hormones, I. Titration of secretin in rats",
in: Physiol. bohemoslov., 6, 1957, S.254-257
33. Schwert, G.W. und T. Takenaka,
"Spectrophotometric determination of trypsin and chymotrypsin",
in: Biochim. biophys. Acta, 16, Amst. 1955, S.570-575
34. Tachiba, S.,
"The bioassay of secretin in the rat", in:
Japan J. Pharmacol. 21, 1971, S.325-336
35. Way, L.W. und M.J. Grossman,
"Pancreatic stimulation by duodenal acid and exogenous hor-
mones in conscious cats", in:
Amer. J. Physiol., 219, Aug. 70, S.449-54

LEBENS LAUF

Am 30. März 1948 wurde ich, Karl Neumann, als drittes Kind des Polizeibeamten Karl Neumann und seiner Ehefrau Wilhelmine, geb. Vössing, in Essen an der Ruhr geboren.

Nach dem Besuch der katholischen Kraienbruchschule in Essen-Dellwig von 1954-1958 trat ich in das Gymnasium Essen-Borbeck ein, an welchem ich am 7. Juli 1967 das Abitur des naturwissenschaftlichen Zweiges ablegte.

Zum Wintersemester 1967/68 begann ich in Marburg mit dem Studium der Physik und Chemie, wechselte jedoch nach erfolgreich abgelegten Prüfungen zum Sommersemester 1968 in das Studienfach der Zahnheilkunde. Da mir das naturwissenschaftliche Studium voll auf mein neues Studienfach angerechnet wurde, konnte ich am 1.10. 1968 die naturwissenschaftliche und am 17.3.1970 die zahnärztliche Vorprüfung ablegen. Nach weiteren 5 Semestern bestand ich dann am 13.11. 1972 in Marburg die zahnärztliche Prüfung. Während des Sommersemester 1971 begann ich im Stoffwechsellabor der medizinischen Universitäts-Klinik Marburg unter Leitung von Herrn Prof. Dr. med. H. Goebell mit der Arbeit an meiner Dissertation.

Zum 3. Dezember 1972 wurde ich zur Bundeswehr eingezogen, wo ich bis zum 3. März als Stabsarzt auf einer Zahnstation tätig war.

Von März 1973 bis Ende Mai 1973 setzte ich die Arbeit im Stoffwechsellabor fort. Ab 1. Juni 1973 bis Ende Mai 1974 arbeitete ich als Zahnarztassistent in einer Privatpraxis in der Schweiz.

Seit dem 1. Juni 1974 bin ich angestellter Zahnarzt in der Kieferchirurgischen Abteilung des Rudolf Virchow Krankenhauses Berlin bei Prof. Harnisch und Prof. Gabka.

Berlin, den 7.11.1974

Karl Neumann

Meine akademischen Lehrer waren die Professoren
und Dozenten:

Amon, Bernhardt, Castenholz, Dimroth, Engelhardt,
Goebell, Haan, Hennis, Hering, Heuser, Hort, Janke
Karlson, Keil, Koch, Koecke, Korb, Kühnel, Mahr,
Niemeyer, Nöth, Pantke, Petry, Pfütz, Riecken,
Rohen, Rosemann, Rupeç, Salfeld, Schiff, Schmidt, Schnell,
Seidel, Stuke, Walcher

